

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1939-1940 — N° 85

Travail du Laboratoire de Chimie biologique
de la Faculté de Médecine de Lyon (Professeur FLORENCE)

Contribution à l'étude
de la néphrite expérimentale uranique
chez le lapin

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTE de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 31 Janvier 1940

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Jane M. FRANCILLON

Née le 7 Juillet 1914, à SALLES D'ANGLE (Charente)



LYON

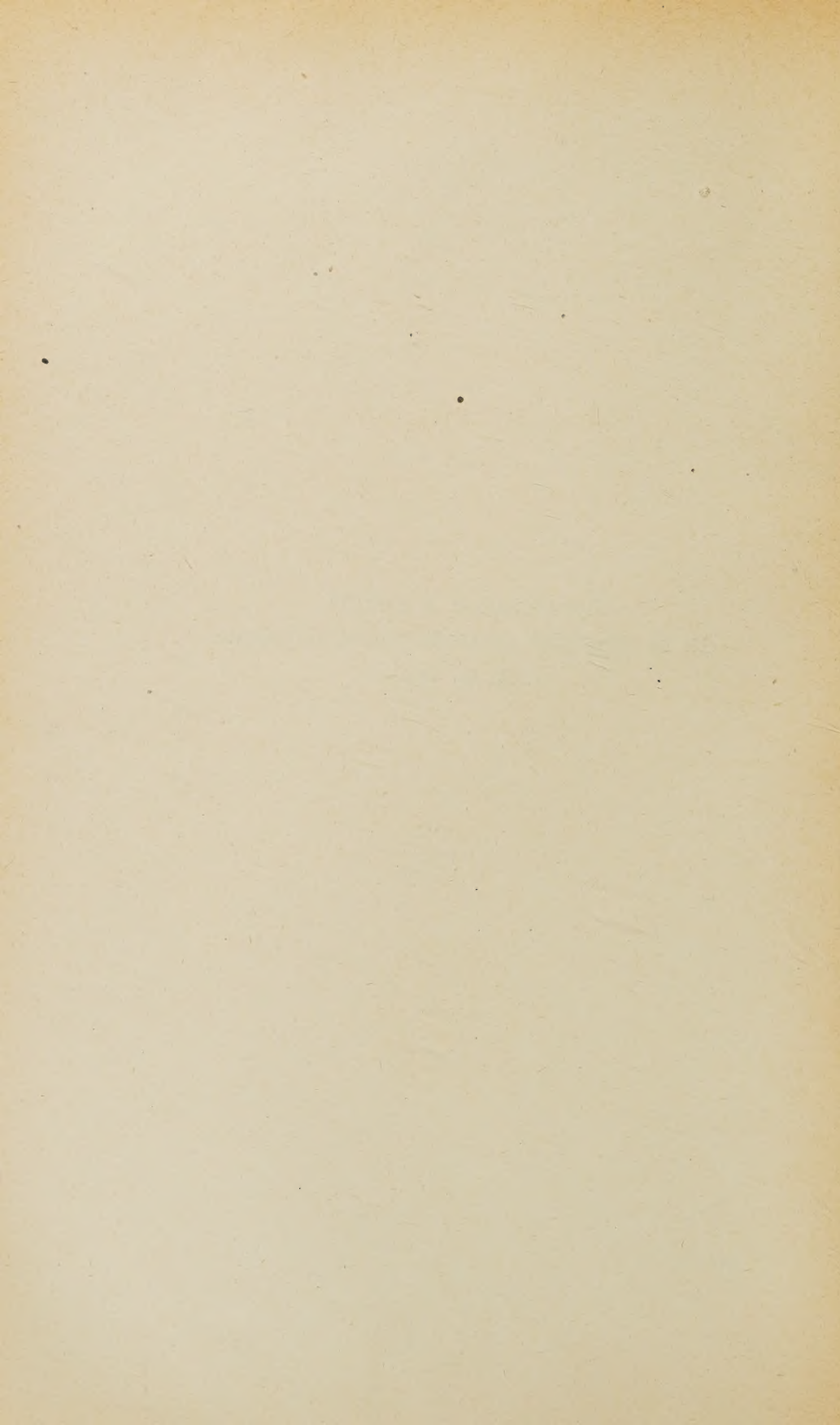
BOSC Frères M. & L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

42, Quai Gailleton, 42

1940

Contribution à l'étude
de la néphrite expérimentale uranique
chez le lapin



FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1939-1940 — N° 85

Travail du Laboratoire de Chimie biologique
de la Faculté de Médecine de Lyon (Professeur FLORENCE)

Contribution à l'étude
de la néphrite expérimentale uranique
chez le lapin

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTE de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 31 Janvier 1940

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Jane M. FRANCILLON

Née le 7 Juillet 1914, à SALLES D'ANGLE (Charente)



LYON

BOSC Frères M. & L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

42, Quai Gailleton, 42

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire.....
Doyen
Assesseur

M. L. HUGOUNENQ.
M. J. LEPINE.
M. A. MOREL.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. LANNOIS, HUGOUNENQ, PIC, CONDAMIN, PAVIOT,
NICOLAS, VILLARD, NOVÉ-JOSSERAND, TIXIER, COLLET, GAYET, CLUZET

PROFESSEURS

Cliniques médicales.....
Cliniques chirurgicales.....
Clinique obstétricale et Accouchements.....
Clinique ophtalmologique
Clinique dermatologique et syphiligraphique.....
Clinique neurologique et psychiatrique.....
Clinique médicale infantile
Clinique gynécologique
Clinique d'oto-rhino-laryngologie
Clinique urologique
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....
Clinique et prophylaxie de la tuberculose.....
Clinique des maladies infectieuses.....
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie.....
Chimie biologique et médicale.....
Chimie organique et Toxicologie.....
Végétation médicale et Botanique.....
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.....
Anatomie
Histologie
Physiologie
Pathologie interne.....
Pathologie générale et thérapeutique.....
Anatomie pathologique.....
Chirurgie opératoire.....
Médecine expérimentale et comparée et Bactériologie.....
Médecine légale.....
Hygiène
Pharmacie et Pharmacologie.....
Hydrologie thérapeutique et Climatologie.....

MM. FROMENT.
SAVY.
PATEL.
BERARD,
VORON.
BONNET.
FAVRE.
LEPINE (J.).
MOURIQUAND.
COTTE.
REBATTU.
CIBERT.
TAVERNIER
COURMONT
J. CHALIER
PONTIUS.
FLORENCE.
MOREL.
MANCEAU.
GUIART.
LATARJET.
POLICARD.
HERMANN.
CORDIER.
CADE.
J.-F. MARTIN.
SANTY.
ARLOING (F.).
MAZEL.
ROCHAIX.
LEULIER
PIERY.

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours d'Anatomie médico-chirurgicale.....
Chargé d'un cours d'Embryologie.....

MM. THEVENOT (Léon).
NOEL.

AGREGES

MM.
GABRIELLE
CHAMBON
REVOL
ENSELME
SEDALLIAN
CREYSSEL
DE ROUGEMONT

MM
P. RAVAUULT
PIGEAUD
CROIZAT
DELORE
JOSSERAND
MORIN
BERTRAND

MM
CLAVEL
LEVRAT
BANSILLON
VALLET-GUY
ROMAN
PEYCELON
JOURDAN

MM
FROMENT (R.).
MARTIN (P.-E.).
MOUNIER-KUHN
BROSSY
PIFFAULT

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. FLORENCE, *président*, MORÉNAS, *assesseur* ;
P. RAVAUULT.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A MON MARI

A MA GRAND'MERE

A MES PARENTS

Je leur dois tout et ne puis trouver de mots suffisants pour leur exprimer mon affection et ma reconnaissance.

A MES BEAUX-PARENTS

Je suis heureuse de leur témoigner ici la grande affection que je leur porte et la gratitude qu'ils ont su, déjà, faire naître en moi.

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR FLORENCE

Nous tenons à exprimer tout particulièrement notre respectueuse et sincère gratitude. Cet ouvrage est l'expression de sa pensée. Parmi ses importants et multiples travaux, il a bien voulu nous intéresser à l'un des plus récents et nous confier le soin de le faire connaître. C'est un honneur dont nous sommes fière. Qu'il nous permette de l'en remercier du fond du cœur.

AUX MEMBRES DE NOTRE JURY

A NOS MAITRES DE LA FACULTE
ET DES HOPITAUX

Au moment où se terminent nos études médicales, il nous est particulièrement agréable de dédier cette thèse en témoignage de profonde reconnaissance.

Contribution à l'étude de la néphrite expérimentale uranique chez le lapin

INTRODUCTION

Ce travail n'est qu'un chapitre d'une étude plus vaste poursuivie, depuis deux ans, dans le laboratoire du Professeur Florence et ayant pour objet d'éclaircir certains points obscurs de la rétention dans les insuffisances rénales.

L'idée directrice en a été exposée dans un travail récent publié par cet auteur en collaboration avec Rathery, A. Drilhon et Toussaint [1]. En voici les principes essentiels :

Chacun sait l'importance qu'a, au point de vue diagnostic et pronostic des insuffisances rénales, l'interrogatoire à l'aide des techniques chimiques, des rétentions azotées sanguines. Nées en France, les recherches sur ces rétentions ont donné, grâce à Widai, Chauffard, Carnot et Laurent-Gérard, Castaigne, Rathery et Gruat, Chabanier, etc., des résultats extrêmement féconds. « Ces travaux ont été le point de départ d'innombrables travaux tant dans le domaine clinique que dans celui de la biochimie et c'est principalement pour répondre aux problèmes journellement posés par la clinique qu'ont été mises au point

les ingénieuses techniques de la micro-chimie moderne ».

Or, la rétention azotée est dans l'immense majorité des cas mesurée, depuis Widal, par le dosage de l'urée sanguine. D'autres auteurs, Folin et Denis, Chauffard, Rathery, Derot et de Traverse, Fiessenger, Polonowski, Cristol et Puech ont étendu, il est vrai, parallèlement ce dosage à celui de l'acide urique, de la créatinine, des polypeptides.

Mais, quelle que soit la substance dosée, un fait est frappant : Aucune n'est douée de toxicité. On a recours à leur étude parce que les techniques qui en permettent le dosage sont relativement aisées et ne nécessitent que des quantités très faibles de sérum. Mais, il est évident qu'en les interrogeant, on s'adresse à des témoins imparfaits, et il est paradoxal de mesurer une intoxication d'origine rénale en dosant des corps peu agressifs.

Les symptômes, si particuliers de l'insuffisance rénale traduisant une intoxication vraie sont certainement dus à des substances chimiques, toute autres que celles recherchées habituellement et qui signent la diversité clinique des néphrites.

Or, comme l'ont dit les auteurs précités, sans vouloir oublier ce qui, dans cette diversité clinique, peut être apporté par la réaction individuelle de chaque organisme, il peut être intéressant d'introduire, dans le débat, une solution d'ordre, non pas exclusivement quantitatif, mais aussi qualitatif et d'essayer de définir et de doser la ou les substances encore inconnues qui, retenues dans un rein déficient ou élaborées par

l'organisme d'un néphrétique, confèrent au tableau morbide les caractères d'intoxication si caractéristiques des insuffisances rénales.

Devant l'impuissance actuelle des méthodes chimiques pour résoudre ce problème, Florence et Rathery ont pensé utiliser une technique particulière. C'est celle de la recherche spectrographique dans la région invisible du spectre, en l'espèce la région ultra-violet

Cette technique est actuellement étayée par une instrumentation parfaitement au point. Elle permet d'élucider la structure moléculaire des composés chimiques organiques, de déterminer leur constitution, d'en établir la formule chimique.

Les travaux de Victor Henri [3], de Mme Ramart-Lucas [4] entre autres, ont permis d'énoncer les règles qui ont fixé les relations existant entre la constitution chimique et les propriétés absorbantes des substances organiques. Grâce à elles, a pu être élucidée la structure moléculaire de certains de ces composés, a pu être déterminée leur constitution, établie leur formule chimique. C'est donc une technique de choix par son caractère objectif, sa précision et la sûreté de ses résultats.

En voici les principes essentiels.

On sait qu'un rayon lumineux blanc de source solaire ou de toute autre origine est scindé lors de son passage à travers un prisme en verre en une série de sept rayons de couleurs dites fondamentales : violet, indigo, bleu, vert, orangé, jaune, rouge, qu'il est facile d'observer à l'aide d'un spectroscope.

Si, sur le trajet du rayon lumineux blanc, on interpose avant son entrée dans le prisme une solution colorée, cette dernière « absorbe » certains des rayons précédents et le spectre continu est alors interrompu par un nombre plus ou moins grand de bandes obscures.

Un exemple banal et classique illustre ce fait expérimental.

Chacun sait qu'une solution étendue (1 pour 100) d'hémoglobine présente à l'examen spectroscopique deux bandes d'absorption caractéristiques : la première étroite et nette se trouve à 577, l'autre plus large et estompée à 540, tandis que le bleu et le violet sont totalement absorbés. Si on concentre la solution, les deux bandes augmentent d'épaisseur pour finir par couvrir tout le spectre et « absorber » toute la lumière. Par contre, si on dilue, les bandes diminuent de largeur : c'est ainsi qu'une solution d'hémoglobine diluée à 1 pour 1.000 ne laisse plus percevoir les deux bandes, mais par contre absorbe encore la couleur dans le violet. On voit par cet exemple qu'une notion *quantitative* est introduite, puisque la dilution intervient dans l'aspect spectral.

De même, on sait que la réduction de l'oxyhémoglobine en hémoglobine transforme le spectre puisque les deux bandes précédentes sont réunies en une bande unique, la bande de Stokes. *Un changement moléculaire modifie donc l'allure spectrale.*

Cette notion, classique dans l'examen spectral des substances colorées, se retrouve exactement dans la région ultra-violette, c'est-à-dire non perceptible par

notre œil, mais perçue par la plaque photographique qui l'enregistre.

Recevons sur une plaque photographique un faisceau de rayons ultra-violet émis par une source lumineuse et préalablement étalés par un prisme en quartz, de Cornu. Nous obtenons ainsi le spectre d'émission de la source lumineuse que nous avons utilisée (en l'espèce un spectre continu si on emploie la lampe à hydrogène) Plaçons sur le trajet du faisceau ultra-violet une cuve à paroi de quartz contenant une solution d'un corps organique absorbant incolore. Nous notons sur la plaque un espace clair, donc non impressionné, correspondant aux radiations retenues par le corps absorbant, absolument comme les bandes de l'oxyhémoglobine dans le spectre du visible. Et, fait capital, *pour des conditions opératoires identiques*, cet espace clair est caractéristique du corps étudié. *Il représente donc une constante de ce corps.* Un même corps, placé dans les mêmes conditions, produit toujours un même spectre, de sorte que si deux corps donnent deux spectres différents, on peut affirmer qu'il s'agit de deux corps différents. Or, les travaux de V. Henri, de Mme Ramart-Lucas permettent dès maintenant des essais de systématisation : chaque fonction de la molécule d'un corps organique absorbe la lumière d'une façon particulière et spécifique.

Le Professeur Florence et son école ont utilisé cette technique pour l'étude des cristalloïdes de sérums sanguins. Nous en exposerons brièvement les grandes lignes dans un chapitre de ce travail.

Disons dès maintenant que le principe essentiel repose sur l'examen du sérum déprotéinisé par l'ultra-filtration. Cette méthode a donné, tant dans le domaine de la physiologie comparée que dans celui de la clinique humaine, des résultats intéressants, en particulier dans les insuffisances rénales.

C'est pour compléter ces dernières que ce travail a été entrepris. L'idée directrice a été d'utiliser les propriétés qu'a le nitrate d'urane de provoquer des lésions rénales pour obtenir des néphrites avec rétention. En variant la dose de nitrate d'urane employée, on obtient soit des néphrites aiguës, soit des néphrites chroniques permettant de suivre à volonté le processus morbide.

De plus, comme nous le verrons, le sang de lapin se prête d'une façon particulière à ces recherches. Beaucoup plus simple que le sang humain dans son image spectrographique, il laisse percevoir la moindre variation dans sa composition et constitue, de ce fait, un moyen d'étude extrêmement précieux.

Dans ce travail, nous exposerons :

1° Dans un premier chapitre, les résultats déjà acquis grâce à l'étude des néphrites uraniques chez l'animal.

2° Dans un second chapitre, les techniques utilisées par nous tant dans le domaine de la spectrographie que dans l'étude chimique du sérum.

3° Dans un troisième chapitre, nous situerons, au point de vue spectrographique, l'ultra-filtrat sanguin du lapin comparé à celui de l'homme et d'autres espèces animales.

4° Dans un quatrième chapitre, nous verrons les modifications apportées par la néphrite et les conclusions que nous pourrons en déduire.

Ce travail était en cours dans le laboratoire du Professeur Florence, au moment des événements que l'on sait. Il n'a pu être complètement terminé et il lui manque, d'une part, l'étayage de constatations anatomopathologiques, d'autre part d'être étendu à d'autres espèces animales. Le chien, le cobaye, l'oiseau surtout avec son métabolisme azoté si particulier, devront être étudiés.

Ces recherches seront reprises plus tard. Le travail que nous présentons n'est qu'une introduction à une étude beaucoup plus vaste et n'a que la valeur d'une prise de date.

CHAPITRE PREMIER

LA NEPHRITE URANIQUE EXPERIMENTALE

L'idée de provoquer expérimentalement chez l'animal une lésion rénale par l'injection d'une substance agressive toxique n'est pas neuve.

En 1888, Chittenden et Hutchinson [5] signalèrent la possibilité d'obtenir des lésions de néphrite aiguë à la suite de l'injection de doses massives de nitrate d'urane. Ces expériences furent ensuite reprises, mais il fallut arriver en 1904 pour voir Richter [6] utiliser le sel uranique aux fins d'obtenir chez l'animal des lésions analogues à celles observées au cours du mal de Bright.

Dickson [7], en 1912, dans une série de recherches très poussées, confirma les observations de Richter. Il démontra qu'une intoxication prolongée obtenue par l'injection de doses légères fréquemment répétées de sel uranique, provoquait chez le lapin, le cobaye, le chien, des lésions analogues à celles observées chez l'homme à la suite du mal de Bright.

Mac Nider [8] reprit les recherches de ses devanciers. Il choisit le chien comme animal d'expérience. Ses conclusions furent les suivantes :

Il est possible en variant les quantités de nitrate

d'urane injectées de provoquer à volonté, soit des lésions de néphrite aiguë, soit des lésions de néphrite chronique, dont le syndrome anatomo-humoral se rapproche du mal de Bright humain.

Il est important de tenir compte de l'âge : l'intolérance est infiniment plus grande chez l'animal âgé que chez le jeune animal.

L'intoxication est caractérisée par une diminution de la réserve alcaline du sang, par l'apparition de l'albumine urinaire, l'augmentation de l'urée sanguine et le retard de l'élimination de la phénol-sulfone-phthaléine.

Pour l'auteur, c'est ce dernier test qui est le plus précoce, tandis que la rétention uréique serait plus tardive. C'est ainsi que cette dernière peut ne se manifester que 36 heures après l'apparition d'une élimination nette de la matière colorante injectée.

L'albumine urinaire n'apparaît que 24 heures après l'injection. Pendant les cinq ou six jours qui suivent, il semble y avoir parallélisme entre la quantité d'albumine urinaire et la lésion rénale. Après cette période la quantité d'albumine urinaire diminue rapidement, tandis que, par contre, la rétention uréique augmente et en même temps s'accuse la diminution de l'élimination de la phénol-sulfone-phthaléine.

Tous les animaux intoxiqués par le nitrate d'urane ont présenté une diminution nette de la réserve alcaline. Cette chute est beaucoup plus accusée chez l'animal âgé que chez l'animal jeune et Mac Nider insiste sur le parallélisme entre la gravité du processus dégénératif et le trouble de l'équilibre ionique du plasma.

De plus, dans les cas légers, le premier symptôme du retour à la guérison est l'augmentation de l'élimination de la phénol-sulfone-phtaléine.

Des résultats très intéressants ont été obtenus par Nuzum-Rotschild [9]. Ces auteurs ont montré qu'une injection même légère de nitrate d'urane était toujours suivie d'une altération des cellules tapissant les « Tubuli contorti ». Ces dernières sont œdématisées et, de ce fait, peut résulter une oblitération. Si l'intoxication est massive et brutale, on voit apparaître une nécrose provoquant une disparition des éléments cellulaires. La mort est rapide.

Parallèlement à ce processus histologique, se développent les réactions humorales caractérisées par une rétention de l'urée et de l'azote total non protéique.

La réserve alcaline diminue et le syndrome acidosique apparaît.

Si l'animal en expérience est jeune, et l'injection légère, les lésions peuvent se réparer, ainsi que l'avait déjà démontré Mac Nider. La réserve alcaline redevient normale, le taux de l'urée s'abaisse. Cependant fréquemment persistent des traces d'albumine urinaire.

Par contre, si l'animal est âgé et si l'on poursuit les injections de nitrate d'urane, apparaissent les lésions glomérulaires, des altérations de la capsule de Bowman analogues à celles rencontrées dans le mal de Bright, en même temps les réactions humorales évoluent, la réserve alcaline diminue, l'urée et l'azote total non protéiques augmentent.

Nuzum-Rotschild insistent sur l'importance de l'é-

tude de la réserve alcaline. Enfin, ils signalent l'apparition de l'acide urique dans l'urine, sans citer ce corps dans le sérum de l'animal intoxiqué.

En résumé, les expériences des auteurs précédents montrent que le nitrate d'urane est un réactif précieux pour l'obtention de néphrites expérimentales.

Nous tenons cependant, dès maintenant, à insister sur ce fait qu'il serait peut-être imprudent et inexact de généraliser et de faire un parallélisme étroit entre la lésion obtenue par une intoxication provoquée par un poison métallique lourd et celle résultant de l'attaque du parenchyme rénal par une toxine microbienne. Le tableau si particulier de la néphrite mercurielle aiguë que l'on observe en clinique humaine, à la suite de suicides ou d'accident médicamenteux, tableau tout différent des néphrites consécutives à une maladie infectieuse aiguë, doit induire à une grande prudence de l'interprétation des faits, nous tenons à le spécifier dès maintenant.

CHAPITRE II

TECHNIQUES

Dans ce chapitre consacré aux techniques que nous avons utilisées, nous passerons en revue successivement :

- a) Celles ayant trait à l'expérimentation spectrographique ;
- b) Celles ayant trait à l'ultra-filtration ;
- c) Les techniques chimiques ;
- d) Les techniques biologiques.

A. — Techniques spectrographiques

La technique spectrographique utilisée au laboratoire du Professeur Florence a été décrite dans la thèse de son élève Toussaint [2], à laquelle nous renvoyons le lecteur, désireux d'en connaître les détails. Il trouvera aussi des renseignements très précieux dans les articles de Vlès [10].

Nous savons que le principe de la spectro-photométrie réside dans l'étude des variations d'intensité suivies par le rayonnement issu de la substance étudiée, l'intensité du rayon incident étant pris comme point de comparaison.

Pour faire varier ce facteur, diverses méthodes ont été utilisées :

a) MÉTHODE DES DILUTIONS SUCCESSIVES

L'intensité du rayon émergeant varie en raison inverse de la concentration de la solution étudiée. Cette méthode est peu commode, obligeant à des manipulations nombreuses. De plus, elle était, dans le cas qui nous occupait, inutilisable, nécessitant des quantités considérables de liquide. Elle était de ce fait incompatible avec les recherches effectuées sur des corps biologiques.

B. — EMPLOI DES CUVES A ÉPAISSEUR VARIABLE

C'est celle qui est préconisée par Lecomte du Nouy qui l'a utilisée dans ses remarquables recherches sur les protéines sériques.

Ces cuves sont constituées par deux parties reliées par un pas de vis serré qui permet d'accroître ou de diminuer l'épaisseur de la solution. Là encore, une quantité relativement importante de liquide est nécessaire.

c) LES TECHNIQUES CHIMIQUES

Nous avons utilisé au laboratoire de chimie médicale de la Faculté de Lyon, le système spectrophotométrique du Professeur Vlès, qui agit par un diaphragme, sur la totalité des radiations émergentes, en laissant passer une quantité plus ou moins importante. Il est constitué par deux volets verticaux mobiles, suivant l'axe horizontal, devant deux lames ho-

horizontales fixes. Les volets sont commandés par une vis micro-métrique à tambour. L'ensemble forme donc un rectangle déformable qui doit traverser le flux lumineux.

Le système photométrique de Vlès est monté sur le grand spectrographe en quartz de Jobin et Yvon.

Cuve. — Etant donné la très faible quantité de liquide qui était à notre disposition, nous avons utilisé des cuves cylindriques de Zeiss appartenant à l'appar-



FIG 1. — Spectrographe de Jobin et Yvon.

- A) Lampe à hydrogène de Gallois, premier modèle.
- B) Cuve en quartz.
- C) Obturateur pneumatique remplacé ultérieurement par un obturateur électrique.
- D) Système spectrophotométrique de Vlès.
- E) Lampe servant à éclaircir le tambour du spectrophotomètre.

reillage d'un spectrographe de cette maison, et pour lesquelles avait été construit un petit bâti spécial, pouvant être adapté au spectrographe de Jobin. Ces cuves, remarquablement calibrées à 10 mm. de longueur, nous ont donné une entière satisfaction.

Obturateur. — Au début des recherches effectuées au laboratoire, était utilisé un obturateur pneumatique ordinaire d'appareil photographique, commandé par une poire de caoutchouc et constitué par un double volet ramené à la position de fermeture par un fort ressort (voir fig. 1). La durée du temps de pose était donnée suivant les indications de Vlès par un métronome.

Cette méthode, pour excellente qu'elle soit, exige de la part de l'opérateur une attention soutenue. Une erreur, si minime soit-elle, peut fausser le résultat et provoquer des défauts qu'il est difficile d'interpréter.

De plus, les lectures des plaques ont été faites jusqu'à présent au laboratoire, à l'œil, sur un négatoscope banal. Or, prochainement sera utilisé pour la lecture des plaques un opacimètre Jobin et Yvon, à cellule photo-électrique, permettant d'apprécier les moindres variations de l'intensité des bandes spectrales : il est donc indispensable d'utiliser un temps de pose rigoureusement constant. C'est pour répondre à ces conditions que le Professeur Florence a fait construire le système suivant et dont la figure 2 fait aisément comprendre le principe.

Un petit électro-aimant circulaire est traversé par une tige de fer doux, portant un volet obturateur.

En position de repos, celui-ci arrête la marche du rayon lumineux et ne laisse passer ce dernier que quand le courant envoyé dans l'électro-aimant fait s'élever la tige de fer (position de la figure 2). L'ouverture et la fermeture du circuit sont commandées

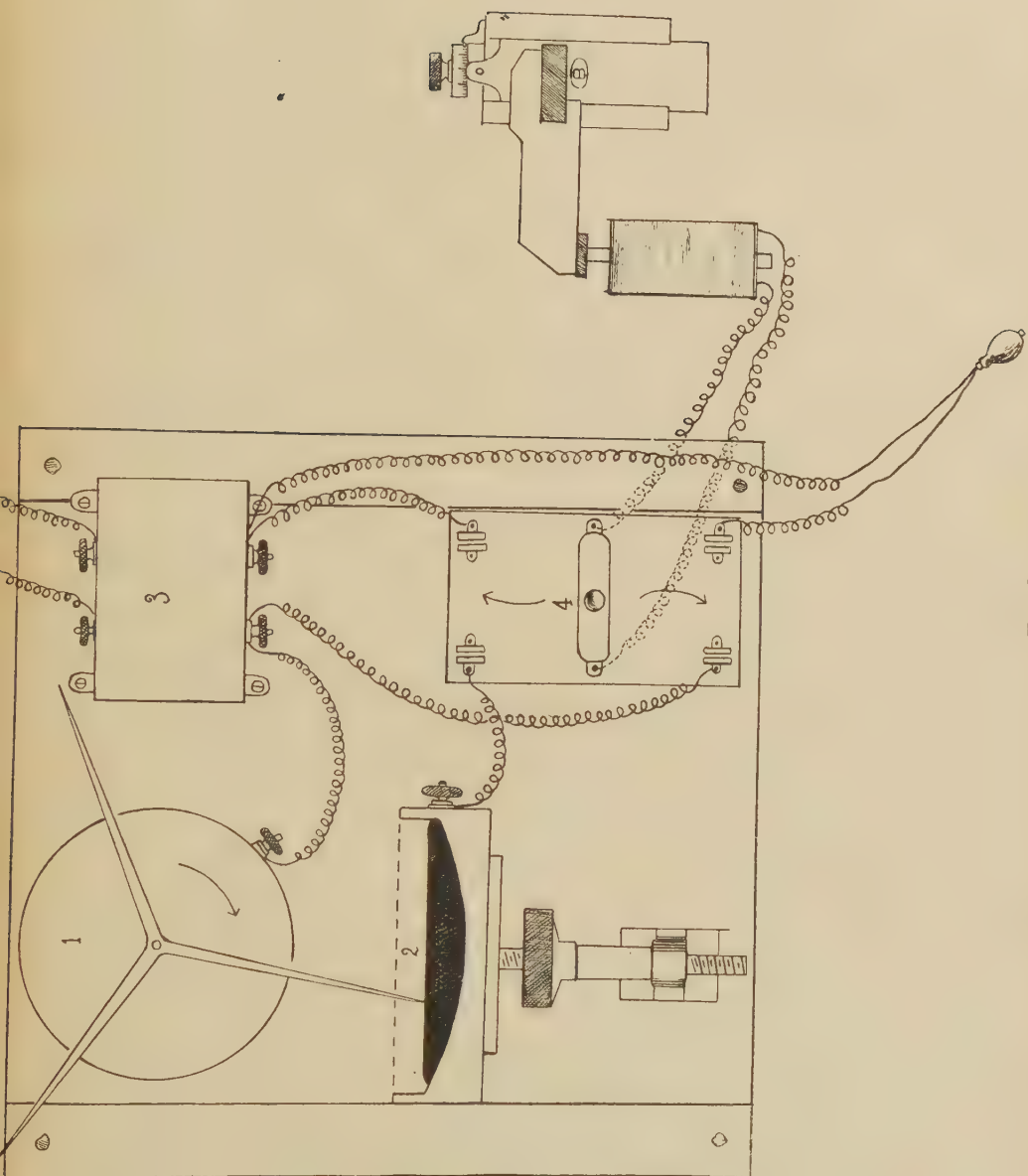


FIG. 2

par un mouvement d'horlogerie électrique (1), mu par le courant alternatif de 50 périodes du secteur et réglé par un petit moteur synchrone. L'axe qui, normalement, entraîne l'aiguille des secondes, supporte ici trois aiguilles écartées à 120° . En plongeant dans le bain de mercure (2) elles ferment le circuit pendant un temps rigoureusement égal pour les trois aiguilles.

Cette durée du temps de pose est facilement réglée par une vis micrométrique qui soulève ou abaisse le bain de mercure. La tension du courant est abaissée à 4 volts par un Ferrix (3).

Un dispositif (4) permet, par un jeu de manivelle, de passer alternativement du système automatique au système commandé par un métronome et la main de l'observateur.

La durée du temps de pose est d'à peu près cinq secondes (variable suivant les plaques employées, l'intensité lumineuse donnée par la lampe, etc...). Chaque pose ayant lieu toutes les 20 secondes, il reste donc 15 secondes de disponibles pour modifier l'ouverture du système spectro-photométrique et déplacer le châssis. Ce temps est, avec un peu d'habitude, largement suffisant.

Lampe à hydrogène. — On sait que le passage d'une décharge alternative dans un tube rempli d'hydrogène pur et sec, sous une pression de l'ordre d'un millimètre de mercure, donne naissance à un rayonnement complexe d'origine moléculaire, résultant de la super-position du spectre de races multiples et d'un spectre continu s'étendant très loin dans l'ultra-violet.

L'intensité relative du spectre continu passe par un maximum pour une position comprise entre 2 et 4 mm. de mercure. Dans ces conditions, un spectrographe à optique de quartz tel que celui de Jobin et Yvon, permet d'obtenir une impression photographique continue s'étendant jusqu'aux bandes d'absorption de l'oxygène à la limite de l'ultra-violet accessible avec les dispositifs spectrographiques usuels.

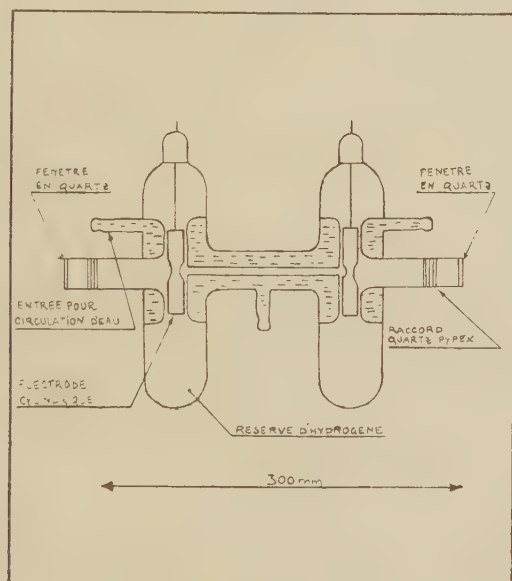


FIG. 3

La lampe que nous avons utilisée (fig. 3) a été récemment mise au point par la Société Gallois. Elle comprend un tube de faible diamètre réunissant deux réservoirs cylindriques dont l'axe est perpendiculaire à celui du tube central (voir fig. 3) et dans lesquels

se trouvent logées les électrodes d'aluminium. Ces deux capacités contiennent une réserve suffisante de gaz, sous une pression de quelques millimètres de mercure. Une chemise d'eau permet de refroidir à la fois le tube central et les parois en contact avec les électrodes. La circulation d'eau est prévue de manière que les deux éléments symétriques du dispositif soient également et énergiquement refroidis.

L'appareil est construit entièrement en pyrex, avec des scellements parfaitement étanches pour les conducteurs reliés aux électrodes. Sur l'une des chambres d'électrodes est fixé dans l'axe du tube central un raccord cylindrique quartz pyrex sur lequel est soudé sans intermédiaire d'aucun masticage un disque de quartz fondu, parfaitement transparent pour les radiations ultra-violettes. L'appareil en usage au laboratoire est rendu parfaitement symétrique grâce à une fenêtre de quartz à chaque extrémité, afin de pouvoir être utilisé pour des expériences simultanées par exemple avec deux spectrographes placés de part et d'autres de la colonne lumineuse

Cette lampe peut être traversée sans inconvénient pendant plusieurs heures par un courant de 300 milliampères sous 1.200 volts environ. Elle fonctionne d'ailleurs normalement sous une intensité beaucoup plus faible et d'autre part elle supporte en régime intermittent, un régime nettement supérieur à 300 milliampères. On l'alimente avec un transformateur convenable dont le circuit primaire peut être placé en série avec un rhéostat ou un self de réglage, un ampèremètre sert à mesurer et à contrôler le régime de la décharge.

Le rayonnement visible émis par le tube est bleu violacé pour les plus faibles intensités.

La couleur de la lumière change progressivement et devient franchement rose pour 150 milli-ampères. Ceci est dû à la présence de la raie H et des bandes rouges du spectre secondaire. Au-dessous de 3.700 Amstrong, le spectre continu est pratiquement pur. La courbe d'énergie de ce dernier s'élève rapidement vers les courtes longueurs d'ondes à partir de l'extrémité violette du spectre visible.

Voici, selon Gallois, les intensités relatives suivant les longueurs d'onde, en utilisant un courant de décharge de 300 m. a. tel que celui utilisé par nous durant nos essais :

Longueurs d'onde	Intensités relatives	Longueurs d'onde	Intensités relatives
2.100	213	2.600	135,5
2.150	223,5	2.700	115,5
2.200	228	2.800	100
2.250	225	2.900	86,25
2.300	214,5	3.000	74,5
2.350	202,5	3.100	65,25
2.400	188,5	3.200	58
2.450	175,5	3.300	52,5
2.500	161,5	3.400	48
2.550	148		

Intensité du courant de décharge 300 mA.

Cette lampe nous a toujours donné une entière satisfaction. Les plaques obtenues sont d'une remarquable pureté.

d) TECHNIQUES BIOLOGIQUES

Les lapins que nous avons utilisés étaient âgés d'un an. Ils étaient nourris de 100 gr. d'un mélange de feuilles de choux, orge, carottes. L'eau était donnée à discrétion.

L'urine de chaque cage était récoltée dans un récipient dans lequel avait été préalablement placé un petit cristal de thymol pour éviter toute putréfaction.

L'azote total urinaire N. T. a été déterminé par micro Kjeldahl, l'urée par la méthode de Fosse au xanthidrol, l'ammoniaque par la méthode de Ronchèse, la créatinine par la méthode de Folin, l'acide

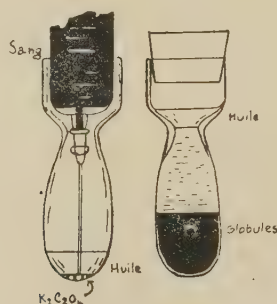


FIG. 4

urique par la technique habituelle. Le sang a été recueilli par ponction du cœur. La ponction par la veine marginale de l'oreille est insuffisante pour obtenir la quantité nécessaire de sang. On peut impunément recueillir 10 cm. de sang. Une partie de ce sang était recueillie extemporanément dans un tube à centrifuger du type représenté par la figure 4, et dans lequel on avait au préalable placé quelques cristaux très fins

d'oxalate neutre de K. Le sang étant centrifugé immédiatement, on procédait extemporanément à la mesure de la réserve alcaline par la méthode de Van Slyke et à la mesure du pH par l'électrode de rotative de Lecomte de Nouy.

L'azote total non protéique a été dosé par micro Kjeldahl, l'urée par la micro méthode au xanthidrol, l'acide urique par la méthode de Laudat.

B. — Ultra-filtration

Nous avons utilisé, pour séparer les albuminoïdes du complexe sérique, l'ultra-filtre de Brull (1), constitué par un bâti d'acier chromé, supportant une plaque de même métal finement perforée : sur celle-ci, on place successivement une rondelle de soie à bluter et une membrane de cellophane de 3/100^e mm. d'épaisseur. Le couvercle de l'appareil pèse sur ces membranes par l'intermédiaire d'un cylindre métallique creux et de couronnes de caoutchouc. Le tout est serré par un gros écrou.

Un bâti surélève légèrement l'ensemble et permet de placer sous lui un entonnoir et un récipient qui collecteront le liquide quand il apparaîtra.

Quand l'ultra-filtre est ainsi monté, on y introduit le liquide, puis on relie l'appareil à une bombe d'azote. Nous utilisons ordinairement une pression de 12 kgs.

Les premières gouttes du liquide commencent à paraître après trois quarts d'heure environ. Elles sont

(1) Iorgen, constructeur, à Liège.

prélevées à part, et l'on vérifie à l'aide d'une goutte de réactif de Tanret si aucun précipité ne se forme, c'est-à-dire si aucune trace d'albuminoïdes ne souille l'ultra-filtrat.

S'il y a un précipité, cela peut n'être que passager. Il faut donc attendre un moment et recommander l'épreuve, quand le filtre est colmaté. S'il se forme encore un trouble, c'est que le montage de l'appareil a été défectueux (la membrane se plisse parfois et une partie du liquide peut passer au niveau de cette irrégularité).

Dans la majorité des cas, les ultra-filtrats de sérum doivent être dilués au dixième, dans de l'eau salée physiologique, pour présenter une absorption convenable à l'ultra-violet. Mais au lieu d'opérer la dilution sur l'ultra-filtrat, il nous a semblé beaucoup plus commode de diluer le sérum lui-même, avant de le placer dans l'appareil. En effet, l'on n'a souvent à sa disposition que de faibles quantités de sérum et il en demeure forcément une partie sur la membrane qui diminue d'autant la quantité utilisable.

Des expériences nombreuses nous ont montré que les résultats étaient identiques.

Si cette technique peut s'appliquer pour l'étude du sérum humain, qui peut être obtenu en quantité suffisante, par contre ne disposant par ponction intracardiaque chez le lapin que d'une quantité minime de sang pour faire les examens chimiques et l'ultrafiltration, nous avons fait construire, sur les indications du Professeur Florence, par Iorgen, à Liège, un dispo-

sitif transformant l'appareil en micro-ultra-filtreur, on peut ainsi n'ultra-filtrer que 2 centimètres cubes de liquide. Le sérum étant dilué à 1/10, 3/10^e de centimètres cubes de ce sérum étaient suffisants pour la recherche spectrographique.

CHAPITRE III

LA COURBE SPECTRALE DE L'ULTRA-FILTRAT DU SERUM DE LAPIN

Florence et son école [11] ont étudié et fixé les caractères de la courbe spectrale de l'ultra-filtrat humain et de différentes espèces animales. Dans une série de publications, ils ont montré que l'ultra-filtrat sérique pouvait être envisagé comme un mélange en solution d'un certain nombre de corps cristalloïdes, électrolytes ou non.

Parmi ces cristalloïdes, les uns présentent des courbes d'absorption spécifiques, d'autres au contraire, tout au moins dans les limites de l'expérience, ne sont pas absorbants. C'est de cet ensemble que résulte la courbe spectrale totale.

Vlès [10], dans une série de recherches remarquables, a fixé les lois qui permettent d'utiliser la spectrographie pour étudier analytiquement et quantitativement les mélanges de corps. Résumons-les ici brièvement :

A. — Rappel des principes des calculs spectro-photo-métriques

L'absorption subie par une radiation monochromatique lors de son passage dans la solution homogène d'un corps absorbant est régie par la loi de Beer-Lambert :

$$I = I_0 e^{-Rce}$$

dans laquelle I est l'intensité de la radiation émergente, I_0 celle qu'elle avait avant d'atteindre la solution, c la concentration et e l'épaisseur du corps considéré. R est un coefficient constant.

Si l'on utilise la forme logarithmique vulgaire, on peut exprimer cette loi sous la forme :

$$K = \frac{\text{col. } \frac{I}{I_0}}{ce}$$

K étant le coefficient d'absorption du corps envisagé, indépendant de son épaisseur et de sa concentration.

Or, cette loi, nous le répétons, vaut pour une radiation monochromatique. Si la radiation envisagée varie,

la valeur du rapport $\frac{I}{I_0}$ varie aussi. L'étude spectrophotométrique d'un corps en solution revient donc à définir une courbe $K = f(\lambda)$ pour une région donnée du spectre. En d'autres termes : il faut chercher les valeurs de λ qui correspondent aux diverses valeurs

du rapport $\frac{I}{I_0}$.

Le système photométrique de Vlès permet de faire varier l'intensité lumineuse et de pouvoir objectiver

cette intensité par un chiffre. Dès lors, la comparaison de deux spectres, placés côte à côte sur une plaque photographique, représentant les absorptions du solvant pur et de la solution à étudier permettra de

voir quelle valeur de λ correspond à telle valeur de $\frac{I}{I_0}$ que l'on aura choisie arbitrairement. En répétant cette opération un certain nombre de fois (14 fois sur une plaque), on obtiendra un nombre de points suffisants dans la majorité des cas, pour tracer une courbe représentative de la fonction :

$$K = f(\lambda)$$

Comment choisit-on les valeurs du rapport col. $\frac{I}{I_0}$?

Arbitrairement, on a choisi 14 valeurs entre 0,1 et 1, de la façon suivante : 0,10 — 0,15 — 0,20 — 0,25 — 0,30 — 0,35 — 0,40 — 0,45 — 0,50 — 0,60 — 0,70 — 0,80 — 0,90 — 1,00. Cette répartition a l'avantage de donner un plus grand nombre de points dans la partie moyenne de la courbe (entre 10 et 50) où se trouvent ordinairement les points d'inflexion.

Une opération logarithmique élémentaire permet de trouver quels nombres ont pour cologarithmes ces chiffres. On obtient par exemple pour un logarithme de 0,40 le nombre : 2,512.

Dès lors, le problème consiste à trouver les valeurs de I et de I_0 correspondant à ces nombres.

Les unes seront encore choisies arbitrairement ; celles de I_0 par exemple. La fente du système de Vlès étant graduée de 0 à 27, nous choisirons pour I_0 des

valeurs échelonnées de 14,5 à 27, par exemple : 14,5 — 15,25 — 16 — 16,75 — 17,50, etc...

A la valeur précédente 0,40 du rapport $\frac{I}{I_0}$ correspondra ainsi une valeur de I_0 égale à 19.

Il est donc aisé de trouver la valeur de I ; dans l'exemple choisi, elle sera : $\frac{19}{2,512} = 7,56$.

En répétant ces opérations pour les 14 valeurs du rapport $\frac{I}{I_n}$, on obtiendra le tableau suivant :

Col	$\frac{I}{I_p}$	$\frac{I}{I_0}$	I_0	I
	0,10	1,259	14,50	11,50
	0,15	1,413	15,25	10,80
	0,20	1,585	16	10,10
	0,25	1,779	16,75	9,42
	0,30	1,996	17,50	8,77
	0,35	2,239	18,25	8,15
	0,40	2,455	19	7,56
	0,45	2,819	19,75	7
	0,50	3,163	20,50	6,48
	0,60	3,982	22	5,52
	0,70	5,012	23,50	4,69
	0,80	6,310	25	3,96
	0,90	7,944	26	3,27
	1,00	10	27	2,70

On photographiera sur la plaque 14 paires de spectres : pour les uns on ouvrira la fente spectrophoto-

métrique suivant les valeurs de I (en faisant traverser au rayon lumineux le solvant pur), pour les autres suivant les valeurs de I_0 (en utilisant cette fois le corps en solution).

La lecture des clichés permettra de se rendre compte pour chaque paire de spectres, à quels niveaux par rapport à l'échelle des longueurs d'onde siègent les égalités de teinte. Ces résultats seront objectivés sur une courbe portant les valeurs $\frac{I}{I_0}$ en ordonnée et celles de λ en abscisse.

Remarque. — Cette répartition arbitraire des valeurs de col. $\frac{I}{I_0}$ satisfait le plus grand nombre des cas envisagés. Mais souvent on a à étudier des courbes spectrographiques dont les sommets sont situés très haut ou très bas sur la courbe ; dans ce cas, si la courbe semble déplacée dans son ensemble, on a avantage, comme nous l'expliquerons plus loin, à modifier la concentration du corps pour amener la courbe spectrale à se trouver « bien en plaque ». S'il s'agit d'une courbe dont les points d'inflexion correspondent, par exemple, l'un à col. $\frac{I}{I_0} = 80$, l'autre à

col. $\frac{I}{I_0} = 10$, on doit multiplier les valeurs de ce rapport dans ces régions, quitte à interpoler pour la région centrale rectiligne de la courbe. On choisira par exemple, des valeurs de 0,5 — 0,10 — 0,15 — 0,20 — 0,30 — 0,40 — 0,50 — 0,60 — 0,70 — 0,80 — 0,90, etc...

D'autre part, si une courbe présente un sommet irrégulier, avec points d'inflexion et accidents multiples, on tirera une plaque spéciale, basée sur des valeurs de $\frac{I}{I_0}$ proches et comprises entre les limites approximatives entre lesquelles se trouve ce sommet (1).

B. — Etude spectrographique d'un corps absorbant en solution

Nous avons raisonné sur des solutions à épaisseur et à concentration fixes, ce qui nous a permis de ne pas nous occuper des facteurs c et e de la loi de Beer-Lambert. Mais il est évident qu'une variation de la concentration de la solution envisagée, en modifiant son absorption, change les résultats obtenus sur la plaque ; l'allure générale de la courbe reste la même, mais l'ensemble en est déplacé vers le haut (c'est-à-dire vers les fortes valeurs de $\frac{I}{I_0}$).

Ces variations sont régies par la loi de Beer :

col. $\frac{I}{I_0} = k \cdot c \cdot e$. Elles doivent être proportionnelles à la concentration, et, de ce fait, l'expérience montre que si l'on prend deux solutions d'un même corps dont les concentrations sont dans un rapport quelconque A , les valeurs de $\frac{I}{I_0}$ correspondant, pour les deux courbes représentatives à une même valeur de λ , sont

(1) Cette amélioration à la technique était en cours au laboratoire. Elle sera reprise quand les circonstances le permettront.

dans le même rapport A, aux erreurs de lecture et de tracé près.

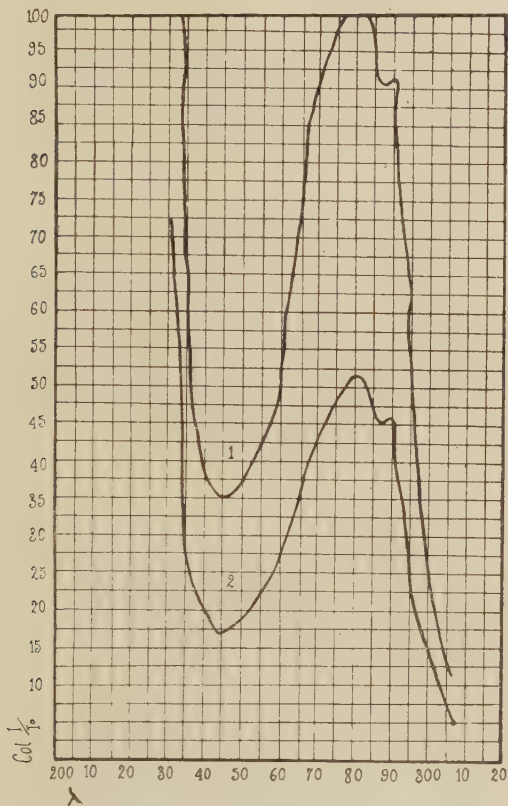


FIG. 5. — Courbe spectrographique du tryptophane. (Lecture au négatoscope) pH 8,9.
1° Solution à 0,0375 0/00.
2° Solution à 0,0187 0/00.

Nous donnons un exemple sur la figure 5. Les courbes de deux solutions de tryptophane, l'une (1) à

(1) L'influence du pH est aussi considérable. Il importe chaque fois que l'on trace une courbe d'en mesurer exactement la valeur.

0,0375 0/00, l'autre (2) à 0,0187 0/00. Les valeurs $\frac{I}{I_0}$ correspondant à une même valeur de λ sont toujours dans le rapport de 1/2.

Cette propriété permet donc, en se basant sur une courbe étalon du corps envisagé (courbe tracée, cela va de soi, avec le plus grand soin et pour une solution rigoureusement titrée) (1) :

1° Connaissant la nature du corps dont on a tracé la courbe représentative, d'en calculer la concentration.

2° De tracer, sans avoir besoin de tirer le spectre, la courbe correspondant à telle concentration de ce corps que l'on veut. Il suffit d'appliquer, point par point, à la courbe étalon, la formule :

$$\left(\text{col. } \frac{I}{I_0}\right)_2 = \left(\text{col. } \frac{I}{I_0}\right)_1 \times \frac{C_2}{C_1}$$

l'indice I se rapportant à la courbe étalon et l'indice 2 à la courbe à déduire.

C. — Etude spectrographique d'un mélange en solution

Les règles que nous venons d'énoncer, intéressantes en elles-mêmes, sont évidemment insuffisantes, car les liquides envisagés en biologie sont toujours constitués par des mélanges souvent très complexes. Voyons donc comment l'on peut en étendre les applications.

Les propriétés de la loi Beer-Lambert donnent lieu, un raisonnement simple le démontre, à des relations d'additivité telles que :

$$\text{col. } \frac{I}{I_0} = \text{col. } \frac{i}{I_0}$$

$$K = mk.$$

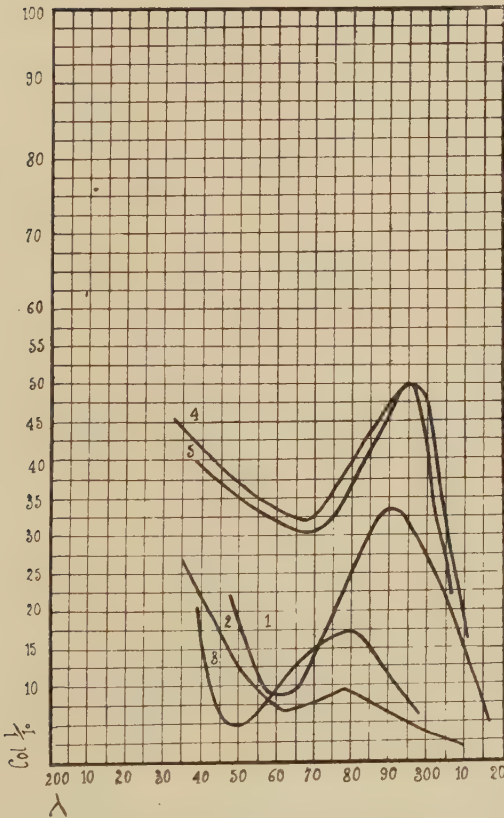


FIG. 6. — Etude expérimentale de l'absorption dans l'U. V. d'ions mélangés en solution.
 1° Acide urique.
 2° Tyrosine.
 3° Tryptophane.
 4° Courbe calculée.
 5° Courbe obtenue.

m étant un coefficient représentant les proportions des divers constituants.

Nous pouvons en déduire plusieurs règles pratiques d'un grand intérêt :

1° La courbe représentative d'un mélange est superposable à celle obtenue en additionnant point par point les valeurs de $\frac{I}{I_0}$ correspondant, dans les courbes de chacun des constituants de ce mélange à une même valeur de λ .

L'expérience le prouve parfaitement, comme le montre la fig. 6. Les courbes représentatives de l'acide urique (1), de la tyrosine (2), du tryptophane (3), additionnées point par point, donnent une courbe (4) pratiquement avec la courbe (5) représentative du mélange total.

2° De même, si l'on soustrait point par point de la courbe représentative d'un mélange, celle qui se rapporte à l'un des constituants, on obtient une courbe résiduelle correspondant au mélange du reste des constituants.

Remarque. — On obtiendrait le même résultat en utilisant comme solution étalon, lors de la prise du spectre du mélange, non plus le solvant pur, mais une solution tirée du corps qui ne doit pas figurer sur la courbe représentative.

3° D'autre part, il est aisé, si l'on considère un mélange de deux corps dont on connaît la nature, de calculer les concentrations relatives de ses constituants.

Soit, en effet, un mélange formé de deux corps A et B, de concentrations inconnues x et y , dont nous connaissons la nature et dont nous possédons les courbes étalons correspondant à des concentrations connues.

Considérons les valeurs de col. $\frac{I}{I_0}$ correspondant,

sur ces courbes, à deux longueurs d'onde λ_1 et λ_2 . Pour les deux courbes étalons, nous pouvons calculer les constantes d'absorption correspondantes k_1 et k_2 , k'_1 et k'_2 données, nous le rappelons par la formule générale :

$$K = \frac{\text{col. } \frac{I}{I_0}}{c. e.}$$

(dans laquelle nous pouvons négliger le facteur e , qui, pour nous, reste constant). A ces deux valeurs λ_1 , λ_2 correspond, sur la courbe du mélange (A + B) en-

visagé, des valeurs de col. $\frac{I}{I_0}$ égales à α et β . Sur les

courbes représentatives de chacun de ces corps pris isolément (et sous les concentrations x et y), il corres-

pondrait des valeurs de col. $\frac{I}{I_0}$ telles que : (col. $\frac{I}{I_0}$)₁

et (col. $\frac{I}{I_0}$)₂, (col. $\frac{I}{I_0}$)₁, et (col. $\frac{I}{I_0}$)₂, qui satisferaient aux relations :

$$K_1 = \frac{(\text{col. } \frac{I}{I_0})_1}{x} \quad K_2 = \frac{(\text{col. } \frac{I}{I_0})_2}{y}$$

$$K'_1 = \frac{(\text{col. } \frac{I}{I_0})_1}{x} \quad K'_2 = \frac{(\text{col. } \frac{I}{I_0})_2}{y}$$

Or, nous devons avoir d'autre part :

$$\alpha = (\text{col. } \frac{I}{I_0})_1 + (\text{col. } \frac{I}{I_0})_2$$

$$\beta = (\text{col. } \frac{I}{I_0})_1 + (\text{col. } \frac{I}{I_0})_2$$

Nous obtenons donc aisément les deux équations :

$$\alpha = K_1 x + K_2 y$$

$$\beta = K'_1 x + K'_2 y$$

D'où en fin de compte :

$$x = \frac{K'_2 - K_2}{K_1 K'_2 - K_2 K'_1}$$

$$y = \frac{K_1 - K'_1}{K_1 K'_2 - K_2 K'_1}$$

Nous voyons donc en fin de compte qu'un mélange de deux corps peut être résolu facilement. Mais les calculs deviennent inextricables si l'on s'adresse à des mélanges plus complexes. Pour résoudre ces derniers, il conviendra de les simplifier dans la mesure du possible :

1° Ou bien en ôtant des courbes envisagées les courbes correspondant aux constituants dont on con-

naîtra la nature et la proportion par d'autres méthodes;

2° Ou bien en cherchant s'il n'existe pas une région de la courbe envisagée où l'un des constituants est spectralement seul. Cela arrive fréquemment, et, dans ce cas, la recherche et l'identification des coefficients sont très utiles. Mais cette méthode ne peut aboutir qu'après des tâtonnements nombreux.

3° Ou bien enfin, en s'essayant à constituer, par l'addition des courbes correspondant aux constituants soupçonnés, une courbe superposable à la courbe envisagée.

Le plus souvent on utilisera un complexe de ces trois méthodes, comme nous le verrons plus loin (recherche des constituants de l'ultra-filtrat sanguin).

Rappelons les applications de ces données à l'étude de l'ultra-filtrat sanguin humain, ainsi que les a fixées Florence et son école. Nous verrons ensuite l'intérêt de leur transposition à celui du sérum de lapin.

Ce spectre dans l'Ultra-violet de l'Ultra-filtrat sanguin normal d'un individu à jeun est représenté par la courbe n° 1 de la fig. 7.

Comme on peut le voir ce spectre est constitué par une courbe qui, partant de λ 313, s'élève rapidement

jusqu'au col. $\frac{1}{1_0}$ 48 s'infléchit à λ 210 jusqu'au col.

$\frac{1}{1_0}$ — 23 à λ 260 et remonte brusquement à λ 235.

Cette courbe qui se retrouve toujours avec les mêmes caractères dans l'Ultra-filtrat de sérum d'individus normaux à jeun est évidemment la résultante de

l'absorption de cristaalloïdes divers, urée, créatinine, acide urique, acide aminé, glucose.

Dans le cas publié dans la fig. 7, la concentration était (sérum dilué au 1/10^e) :

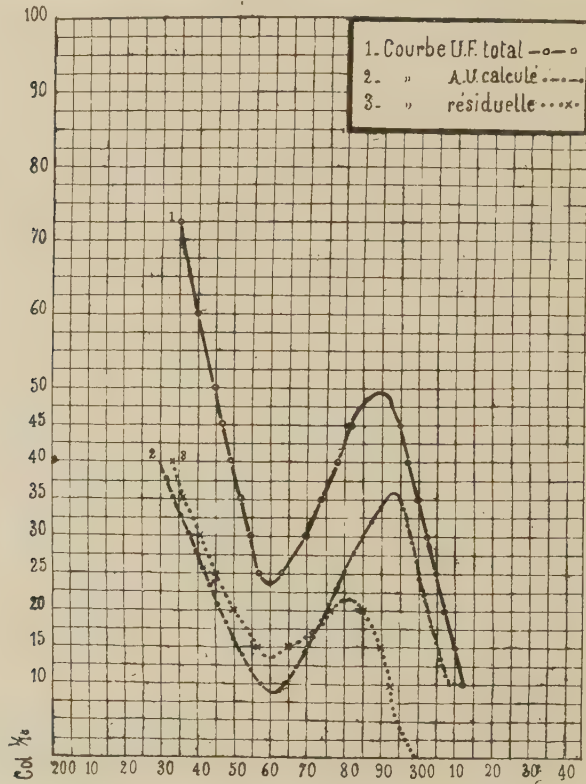


FIG. 7. — Étude de la courbe d'absorption dans l'U. V. de l'Ultra-filtrat du sérum humain.

- 1° Ultra-filtrat total.
- 2° Courbe de l'acide urique calculée (0,0045 0/0)
- 3° Courbe résiduelle.

	Grammes %
Urée	0,026
Acide urique	0,0043

Créatinine.	0,0037
Acides aminés	0,0040
Glucose	0,110
N indosé	0,0038

Or, ni l'urée, ni le glucose, ni la créatinine ne sont doués de pouvoir absorbant à de pareilles dilutions, ainsi que cela fut vérifié maintes fois au laboratoire.

De même les acides aminés aliphatiques, glycocolle, alanine ne sont pas absorbants.

Restent : l'acide urique, les acides aminés aromatiques et l'indozé azote qui, seuls, interviennent dans l'absorption de l'Ultra-filtrat.

Pour fixer la part respective appartenant à chacun de ces corps, il suffit de soustraire de la courbe totale, la courbe calculée avec chacun de ces corps. Cela est possible aisément en partant du spectrogramme de solutions étalons parfaitement dosées. Il existe au laboratoire de chimie biologique du professeur Florence, un atlas en voie d'édition, où sont réunis les spectres des principales substances biologiques à des concentrations données (vu l'importance considérable du pH de ces solutions dans les figures spectrales, il est tenu compte avec grand soin de ce facteur physico-chimique).

Or, en procédant à ce travail analytique on se rend compte immédiatement de l'importance primordiale de la courbe de l'acide urique.

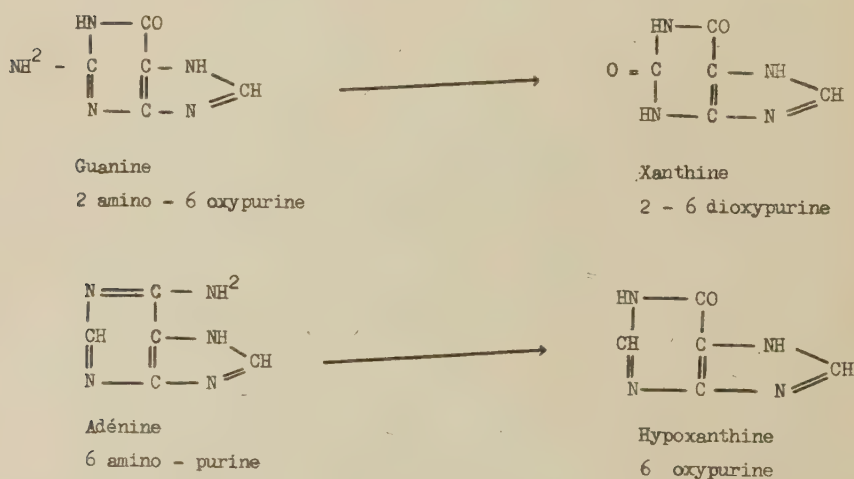
En partant d'une solution étalon de cet acide au pH 7,5 qui est celle de l'ultra-filtrat, on obtient la courbe (2). En soustrayant la courbe 2 de la courbe 1

on obtient la courbe 3 qui est, ainsi que l'a dénommée Florence, la « courbe résiduelle ».

Les travaux déjà parus sur cette question et que nous avons cités, ainsi que ceux actuellement en cours au laboratoire, montrent l'importance considérable de cette dernière courbe dans le pronostic des néphrites. Transposons maintenant ces données dans l'étude du sérum de lapin.

Pour en comprendre l'intérêt il est nécessaire de rappeler quelques notions de la physiologie de l'acide urique.

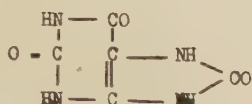
On sait que l'acide urique ou tri-oxypurine est le terme ultime de l'oxydation du noyau purique, représenté dans l'organisme par l'adénine et la guanine :



Ces actions chimiques sont produites par des diastases qui les transforment en xanthine et hypoxanthine.

En dernier lieu une diastase oxydante : la xanthi-

no-xydase oxyde la xanthine en acide urique ou trioxypurine.



Tels sont, brièvement résumés, les procédés d'oxydation des bases puriques chez l'homme. Il s'arrête au stade acide urique et ne va pas plus loin.

Mais chez la plupart des mammifères existe une autre diastase qui oxyde l'acide urique et l'hydrolyse avec formation d'une molécule de CO_2 et d'une molécule d'un corps nouveau, l'allantoïne.

Cette diastase est l'uricase. Elle existe dans le foie. Elle a été bien étudiée par un nombre d'auteurs, en particulier par Kleinmann.

L'allantoïne elle-même n'est pas chez tous les animaux le terme ultime de la dégradation des purines.

Il existe chez certaines espèces animales et chez les végétaux une diastase : l'allantoïnase, qui ouvre le dernier cycle de l'allantoïne et transforme cette substance en *acide allantoïque*.

La répartition des diastases purinolytiques chez les divers animaux qui dégradent les bases puriques nous montre que les animaux n'ont pas tous le même métabolisme vis-à-vis des bases puriques. Les uns s'arrêtent au stade urique : ce sont les animaux *uricotéliques*, les autres conduisent leur dégradation jusqu'à l'allantoïne. Ce sont les *animaux allantoïnotéliques*.

Ces derniers sont de beaucoup les plus répandus. Ils appartiennent à de nombreuses espèces de mammifères.

- 1° Marsupiaux : Opossum.
- 2° Rongeurs : Cobaye, rat, lapin.
- 3° Ungulés : Bœuf, cheval, porc.
- 4° Carnivores : Chien.
- 5° Primates : Singes inférieurs.

Mais même parmi eux, il importe de distinguer deux classes :

1° Les *allantoïnotéliques* purs c'est-à-dire ceux chez qui la totalité ou presque des bases puriques est transformée en allantoïne : rongeurs (lapin), carnivores (chien).

2° Les *allantoïnotéliques mixtes* c'est-à-dire ceux qui ne transforment en allantoïne qu'une partie de l'azote purique et parmi lesquels on doit distinguer deux types :

a) le type à prédominance uricotélique : rongeurs (cobaye), ungulés (bœuf, cheval), marsupiaux (opossum), carnivores (chien de Dalmatie).

b) le type à prédominance purinotélique où les bases l'emportent sur l'acide urique : ungulés (porc).

Les *animaux urécotéliques* purs appartiennent tous à l'espèce des primates : grands singes anthropoïdes, chimpanzés, orangs-outans, gorilles et homme.

Le tableau suivant emprunté à Hunter et Given nous montre exactement le métabolisme purique des divers animaux :

Espèces	Animaux	Elimination % des purines sous forme de :		
		Allantoïne	Acide	Bases
			urique	
Marsupiaux. .	Opposum	76	19	6
Rongeurs. . .	Cobaye	91	6	3
	Lapin	91	6	3
	Rat	91	6	3
Ungulés	Bœuf	92,1	7,3	0,7
	Cheval	88	12,0	0,5
	Cochon	92,3	1,8	5,8
Carnivores. .	Chien	91,1	1,9	1,3
Primates . . .	Homme	2,0	90	8

On voit donc que le lapin, semblable en cela aux autres rongeurs : rat et cobaye, est un animal essentiellement uricolytique. Or, *l'allantoïne ne donne pas de spectre* n'étant pas absorbante. Le sang de cet animal étant dépourvu d'acide urique doit donc, a priori, avoir un spectre tout différent et beaucoup plus simple que celui de l'homme. C'est ce que l'expérience confirme.

Spectre de l'ultra-filtrat sérique du lapin

Le tableau 8 donne l'allure de la courbe spectrale du sérum de lapin (rongeur), comparée à celles de différentes espèces animales : un ungué : le bœuf —

un primate : homme — un poisson : tanche. Si nous exceptons cette dernière dont l'Ultra-filtrat très particulier a été étudié par Florence et Drilhon, nous

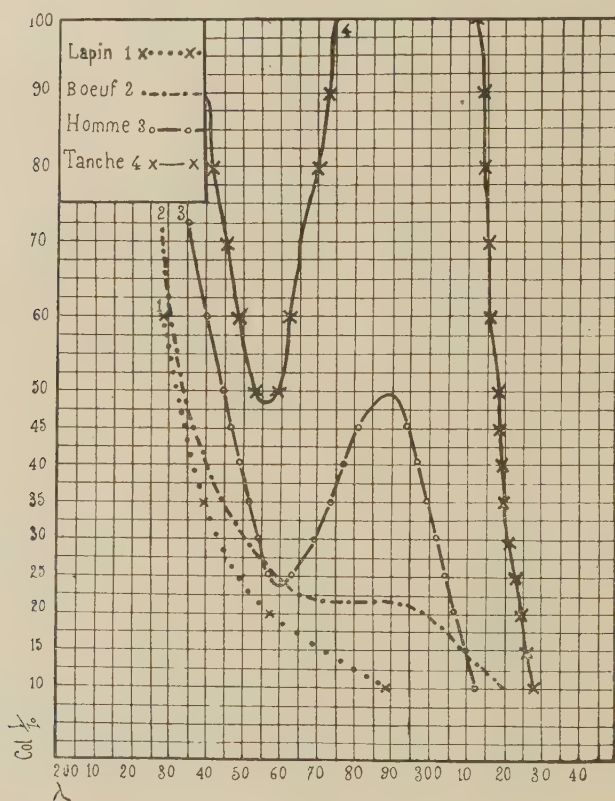


FIG. 8

voyons que le spectre dans l'Ultra-violet de l'Ultra-filtrat du sérum de rongeurs se caractérise par sa remarquable simplicité. Très peu absorbant, il se présente sous la forme d'une courbe à peine cintrée. Il diffère d'une façon très nette de la courbe de sérum

humain dominée par le spectre de l'acide urique ainsi que nous l'avons vu plus haut et il diffère aussi de la courbe de sérum d'un ungué. Chez ce dernier, on perçoit l'ébauche de la courbe uratique par la bande entre λ 280 et λ 295. De plus il est nettement plus absorbant vers λ 300 et λ 310.

Dans l'étude qui nous intéresse, l'Ultra-filtrat du sérum de lapin représentait donc un élément de choix pour que les courbes résultant de l'accumulation due aux rétentions soient constituées par l'indozé sans apport appréciable de substances qui, telles l'acide urique, pouvaient influencer l'allure générale de la courbe.

LA COURBE SPECTRALE DE L'ULTRA-FILTRAT SERIQUE DU LAPIN DANS LA NEPHRITE EXPERIMENTALE

1° Néphrite légère

Lapin B. Poids : 3.800 grs. Age : 13 mois.

Le sérum prélevé le matin, chez l'animal à jeun a donné les chiffres suivants :

N uréique	0,160 0/00
N total	0,391 0/00
Acide urique	0
NU/NT	41,4
R. A.	60,2
P. H.	7,6

La courbe correspondant à ces résultats analytiques est figurée à la courbe 1 de la fig. 9.

On injecte à l'animal 0 gr. 004 de nitrate d'urane, on prélève le sang trois jours après, puis 6 jours, puis 10 jours, puis 20 jours après l'injection.

Les résultats des analyses d'urine et de sang sont résumées dans le tableau 10.

Si on compare ces résultats avec ceux des courbes d'absorption, on constate les faits suivants :

1° *Après trois jours.* — La concentration en N total sériqué a environ doublé (39,1 - 82,1). L'accumulation

de l'urée a été un peu plus sensible, le rapport NU/NT étant passé de 41,4 à 52,6. Un peu d'acide urique a apparu dans le sérum comme si l'agression du nitrate

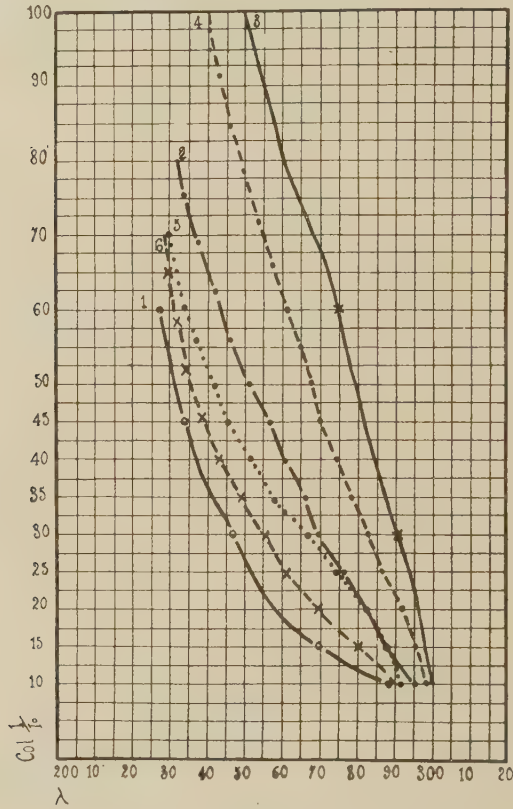


FIG. 9

d'urane se portait en même temps sur la cellule hépatique, détruisant l'uricase. Il y a là tout un problème que des recherches entreprises au laboratoire s'efforceront de résoudre.

Si l'on suit parallèlement l'évolution de la courbe

d'absorption on constate que tout au moins dans le début d'expérience, le coefficient d'absorption a sensiblement doublé. C'est ainsi qu'à λ 270 le col. 1/1₀ pour la courbe 1 a une valeur de 15, tandis que pour la courbe 2 cette valeur est de 30. De même à λ 250 l'absorption de la courbe 1 à col. 1/1₀ a une valeur de 26, tandis qu'elle est de 52 pour la courbe 2.

Uranium	Jour de l'expér.	U R I N E S							S A N G au m.m.g. %						
		Quant.	Alb.	N. tot.	N uréique	NH ₃	Créat.	Acide urique	N ur.	N tot.	NU/Nt	P.H.	CO ₂	Acide urique	Nt -NUR
0 gr 004	0	250	0	0,89	0,64	0	0,09	0,076	15,3	37,6	40	7,5	67	0	22,3
	2ème	340	0,71	0,87	0,51	0,001	0,12	0,17	27,5	58	47	7,3	51	0,015	30,5
	6ème	470	1,05	1,02	0,91	0,025	0,10	0,21	41	66	62	7,3	50	0,016	25
	8ème	400	1,20	1,12	0,92	0,030	0,12	0,19	50*	86	58	7	48	0,018	36
	9ème	310	1,80	1,02	0,88	0,050	0,15	0,22	108	130	10,5	6,9	35	0,026	22
	10ème	300	1,91	1,03	0,87	0,060	0,15	0,25	163	200	8	6,4	34,2	0,026	27

FIG. 10

On remarque, d'autre part, que pour les plus grandes longueurs d'onde l'absorption a à peine varié. Les deux courbes à col. 1/1₀, partent respectivement de λ 290 et λ 295. Remarquons, à ce propos, que la réserve alcaline, si elle est légèrement abaissée, respectivement 60 cm. 1/2 à 53 cms. ainsi que le pH passant de 7,6 à 7,4 ne présente pas cependant une chute massive. Le point mérite d'être signalé dès maintenant, nous verrons en effet le rapport qui semble exis-

ter d'une part, entre la chute de la réserve alcaline et l'allure de la courbe et, d'autre part, la valeur pronostique qui y est attachée.

2° *Au sixième jour.* — Ainsi que l'indique le tableau 8, la courbe 3 s'est élevée verticalement traduisant bien l'absorption considérable provoquée par l'atteinte rénale et que confirme l'analyse chimique (tableau 9).

a) la courbe part de λ 299. Elle s'élève verticalement en présentant une courbure peu accentuée. Ce fait traduit l'apparition dans l'Ultra-filtrat d'une substance nouvelle que le dosage simple par voie chimique ne peut faire.,

b) Bien mieux le rapport entre l'azote uréique et l'azote total diminue. Si l'on soustrait de l'azote total, l'azote uréique qui ne donne aucune courbe, on trouve les chiffres suivants :

Courbe 1 : 23 mmg. %.

Courbe 3 : 52 mmg. %.

Ces deux chiffres sont dans le rapport de 1 à 2,3.

Une courbe obtenue avec une solution dont la concentration serait dans le même rapport, aurait une configuration toute différente, ainsi que le démontre le tableau suivant :

Valeur de	Courbe 1	Courbe théorique 2,3	Courbe 3	Différence
250	25	57,5	97,5	+ 40
260	19	43,7	80	+ 36,3
270	15	34,5	72,5	+ 38,05
280	12,5	28,7	50	+ 21,3

L'urée qui apparaît n'est pas suffisante à elle seule pour expliquer l'allure générale de la courbe.

Il passe donc dans le sérum une substance beaucoup plus absorbante et de constitution moléculaire certainement très complexe.

Cette ou ces substances sont certainement douées d'une grande activité chimique et c'est à elles que doivent être attribuées les syndromes toxiques. Nous verrons plus loin leur importance dans le pronostic.

3° *Au dixième jour.* — L'état général de l'animal en expérience est toujours médiocre. L'albuminurie est aussi considérable qu'au sixième jour.

Le dosage de l'azote total donne un chiffre de 1 g. 0/00, l'azote uréique étant de 0,66 0/00. Ce dernier n'étant ni absorbant, ni toxique, reste donc 33 g. 5 d'azote résiduel présentant des caractères de toxication.

Remarquons que ce chiffre est moins fort que celui résultant des analyses du sang prélevé au troisième jour de l'intoxication : or, la courbe correspondante à cette analyse (courbe 2) est nettement moins absorbante. Il est facile d'en déduire que la nature de l'azote résiduel n'est plus la même.

Sous l'influence peut-être de lésions hépatiques concomitantes, et ce point devra être vérifié ultérieurement, il se produit une transformation moléculaire, très vraisemblablement par l'action de diastases : peptidases, carboxylates, sur l'importance desquelles a si justement insisté le Professeur Loeper.

Si nous comparons, comme nous l'avons fait avec la courbe précédente, les valeurs respectives aux dif-

férentes longueurs d'ondes la courbe 1 et la courbe 4, nous pourrons établir le tableau suivant qui marque bien la différence et accuse la présence de l'azote toxique.

Valeur de	Courbe 1	Courbe théorique conc. 1,5	Courbe 4	Différences
240	35	52,5	95	42,5
250	25	37,5	80	42,5
260	19	28,5	60	31,5
270	15	22,5	45	22,0
280	12,5	18,75	32	13,

On voit que tout au moins pour les courtes longueurs d'ondes la différence est aussi accusée. Par contre, la baisse est nette pour les plus courtes longueurs d'ondes.

4° *Au vingtième jour*, après l'injection, la courbe 5 témoigne d'une absorption plus forte que la courbe initiale. L'analyse chimique brute montre parallèlement une rétention azotée plus prononcée que dans le sang normal. Cependant cette absorption est surtout accusée en tant qu'azote uréique. Le rapport NU/NT qui, chez le lapin normal est de 41,4, reste ici à 55, et si on compare l'azote résiduel qui, répétons-le, est seul absorbant, *on constate qu'il est plus faible* qu'au début de l'expérience. La courbe ne devrait donc pas être plus absorbante, si les substances retenues étaient de même nature. En réalité, on peut dans cette augmentation du coefficient d'absorption, trouver une preuve de plus que les substances retenues sont plus complexes et s'éliminent lentement.

Du reste, on constate encore à l'examen de cette courbe une différence dans l'allure générale vers les longueurs d'ondes 270 et 280, elle est nettement plus absorbante.

5° Au bout du 45^e jour, par contre, où l'animal peut être considéré comme guéri, l'allure de la courbe est redevenue normale. Il y a là un parallélisme remarquable entre l'analyse chimique et l'analyse spectrographique, prouvant la sensibilité et l'intérêt de cette dernière.

2° Néphrite aiguë grave

Certains animaux sont plus sensibles que d'autres à l'intoxication uranique. Tandis que d'autres présentent une sorte d'immunité les rendant réfractaires au point de supporter des doses considérables, d'au-

Uranium	Jour de l'expér.	U R I N E S							S A N G au m.m.g. %							NT-NUR
		Quant.	Alb.	N. tot.	N uréique	NH3	Créat.	Acide urique	N/ur.	N. tot.	NU/NT	PH.	CO2	Acide urique en gr. %		
ormal	0	241	0	0,91	0,63	0	0,12	0,071	16,2	39,1	41,4	7,6	60,2	0	23	
m.g.	3ème	221	0,62	1,01	0,62	tra-ces	0,09	0,061	13,2	82,1	52,5	7,4	53	0,018	39	
	6ème	340	0,98	1,05	0,67	0,002	0,12	0,017	88,3	141	62,1	7,2	48	0,021	52,7	
	10ème	220	0,91	1,57	1,19	tra-ces	0,10	0,018	66,5	100	66,5	7,4	53	0,015	33,5	
	20ème	180	0,69	1,10	0,71	"	0,10	0,018	25,2	46	55	7,4	55	0,009	20,8	
	45ème	210	tra-ces	0,99	0,65	0	0,11	0,063	20,4	43	47	7,4	60	0	23	

tres, au contraire, avec des doses faibles, contractent d'emblée une néphrite grave, marchant immédiatement à l'issue fatale.

L'exemple que nous publions ici est celui d'un lapin du sexe mâle d'un an et demi.

Après une injection de 5 mmgr. de nitrate d'urane, il présentait dès le troisième jour un aspect clinique grave, une albuminurie très marquée (voir tableau 11).

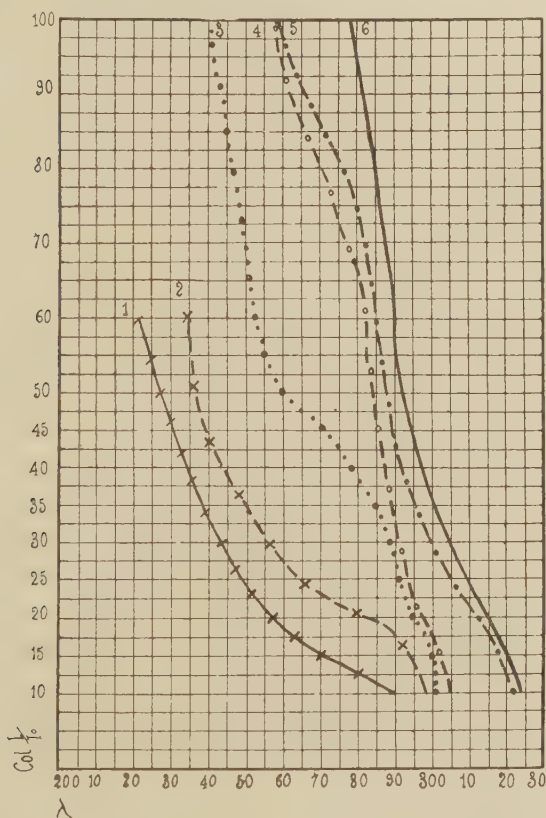
Comme on peut le voir à l'inspection des chiffres publiés, la chimie sanguine du lapin en expérience ne diffèrait guère du précédent (du reste en s'adressant toujours aux mêmes espèces et en les soumettant à un régime identique, les chiffres sont toujours comparables). Parallèlement, la courbe obtenue chez l'animal sain est identique à celle de l'expérience précédente.

1° Dès le deuxième jour se manifeste une rétention nette. L'azote total s'élève de 37,6 à 58, l'urée de 15,3 à 27,5. L'élévation de la courbe 2 (fig. 12) est caractéristique. Deux points y sont à signaler :

a) On constate que, contrairement à ce que nous avons signalé dans le cas de la néphrite légère, l'absorption d'emblée s'étend aux grandes longueurs d'onde. A l'état normal, le sérum de lapin à col. 1/1° 10, est absorbant à λ 290. Ici l'absorption débute à λ 298, sans que les résultats de l'analyse chimique puissent expliquer cette modification qualitative.

2° De plus, on constate à λ 290 une bande d'absorption modifiant la courbe initiale et traduisant l'apparition de l'acide urique. Il y a là, à notre avis, un point

extrêmement intéressant. Il semble que l'intoxication uranique frappe non seulement le rein, mais aussi le parenchyme hépatique.



Chacun sait que l'uricase, si elle existe dans nombre de tissus est surtout abondante dans le foie, chez les animaux poussant la dégradation purique jusqu'au stade allantoinique. L'apparition d'acide urique dans le sérum du lapin intoxiqué par l'urane, montre

bien l'atteinte de la cellule hépatique et l'intérêt qui s'attache à poursuivre parallèlement l'étude de l'insuffisance hépatique et de l'insuffisance rénale.

L'étude des courbes obtenues dans l'étude de l'Ultra-filtrat de sérum montre, de plus, un fait très important : c'est le parallélisme entre l'absorption et la chute de la réserve alcaline.

Vers le neuvième jour, la réserve alcaline tombe de 48 cm³ à 35 cm³ de CO². Au huitième jour la réserve alcaline était encore de 48 cm³. L'étude des courbes 4, 5, 6 de la figure, correspondant aux résultats précédents, montre brusquement une absorption considérable vers les grandes longueurs d'onde. A à col. 1/1° 10, l'absorption débute à λ 320 marquant bien l'apparition dans le sérum de substances acides bouleversant l'équilibre acido-basique.

Dans toutes les expériences que nous avons faites, nous avons pu constater le parallélisme entre l'absorption Ultra-violette et l'acidose d'une part, d'autre part l'importance de l'aspect de la courbe.

Quand l'absorption atteint λ 305, le processus est irréversible et le pronostic est fatal.

Quelle est la nature du corps apparaissant dans le sérum et conférant une telle gravité ?

Pour répondre à cette question, d'autres recherches sont nécessaires. Nous les entrevoyons dans l'ordre suivant :

1° Reprendre cette étude sur des animaux plus volumineux : chien par exemple, qui, par l'abondance du liquide sanguin obtenu permettront des recherches d'ordre chimique.

2° Ne pas les cantonner à l'étude du sang seul. Il est dans l'organisme d'autres milieux humoraux : espaces lacunaux, liquide C. R., sucs d'organes, etc. dont l'étude même physiologique est à peine ébauchée. Leurs modifications chimiques n'ont jamais été étudiées. Il y a là un champ à prospecter, dont les résultats peuvent être extrêmement féconds. Ce sera peut-être le travail de demain.

CONCLUSIONS

1° La spectrophotométrie est une technique de dosage pouvant s'étendre à l'analyse quantitative de mélanges de corps en solution. Les lois et formules qui commandent ces dosages sont énoncées et discutées.

2° La technique de la spectrophotométrie a pu être perfectionnée grâce à l'emploi d'une source lumineuse uniforme, d'un mécanisme régulateur du temps de pose, etc.

3° L'ultra-filtrat sérique du lapin a un spetre d'absorption très particulier, en rapport avec la physiologie de ce rongeur.

4° Le lapin est un animal de choix pour l'étude de la néphrite expérimentale, grâce à la spectrographie.

5° Cette dernière technique permet d'affirmer la présence dans le sérum de l'animal intoxiqué, de substances particulières toxiques qui signent le pronostic.

Vu :

Le Doyen,
JEAN LEPINE.

Vu :

Le Président de la Thèse,
FLORENCE.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 20 Janvier 1940

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
A. LIRONDELLE.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] FLORENCE G., RATHERY F., DRICHON A., TOUSSAINT P. — Contribution à l'étude des rétentions dans les insuffisances rénales. Examen spectrophotométrique de l'Ultra-filtrant sanguin. *Presse Médicale*, 38-1939.
- [2] P. TOUSSAINT. — *Thèse de Lyon* 1939.
- [3] VICTOR HENRI. — Etudes de photo-chimie. Paris 1919.
- [4] MME RAMART LUCAS. — Relations entre la structure des molécules organiques et leur spectre d'absorption dans l'Ultra-violet. *Bull. de la Soc. de Chimie*, 1932, IV, 52, 289-338
Absorption dans l'Ultra-violet et réactivité chimique de certaines classes de composés organiques. *Bull. de la Sté de Chimie*, 1932, IV, 51, 824-838.
- [5] CHITTENDEN R.-H. et HUTCHINSON M.-T. — Some experiments on the physiological action of uranium salts. *Tr. Conn. Ac. Arts and Sc.* 1888, VIII, 1.
- [6] RICHTER P.-F. — Die experimentelle Erzeugung von Hydrops bei Nephritis. *Beitr. Klin. Med. Festschrift. Professor Senator Berlin* 1904, 283.
- [7] DICKSON E.-C. — A report on the experimental production of chronic nephritis in animals by the use of uranium nitrate. *Arch. Int. Medic.* 1909, III, 375.
A further report on the production of experimental chronic nephritis in animals by the administration of uranium nitrate. *Arch. Int. Med.* 1912, IX, 557.

- [8] MAC NIDER. — A functional and pathological Study of the chronic nephropathy induced in the Dog by Uranium Nitrate. *J. Exper. méd.* [29] 513, 1909.

A Pathologic Study of the Naturally acquired chronic Nephropathy of the Dog. *J. Medical Research.* [34], 177, 1916.

- [9] F. NUZUM et L. ROTSCCHILD. — Experimental Uranium Nephritis Chemical and Pathologic Study. *Archives of Internal Medizin.*, 1923, 1, p. 844.

- [10] VLÈS F. et GEX M. — Sur les modifications spectrales des corps organiques dépendant du pH et sur les représentations mathématiques des fonctions qui relient les rapports d'absorption du pH. *Archives de phys. biologique*, 1927 [6].

Recherches sur le spectre ultra-violet de l'œuf d'oursin et de ses constituants. *Arch. de phys. biolog.* 1928 [6], 255.

VLÈS. — Spectrographie et spectrophotométrie ultra-violettes d'absorption avec le dispositif II. *Arch. de Phys. biologique*, mai 1934, XI.

- [11] G. FLORENCE et A. DRILHON. — Absorption dans l'U. V. de l'Ultra-filtrat sanguin. *C. R. Ac. des Sciences*, 17 janvier 1938.

G. FLORENCE, A. DRILHON et P. TOUSSAINT. — Sur les spectres d'absorption dans l'U. V. des ultra-filtrats sanguins. *C. R. Soc. de Biol.* 1938.

